



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHAREL EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

HARRISON LUIZ SANTOS ROCHA

**DIVERSIDADE CARIOTÍPICA EM *Sida* (L.) (MALVACEAE) E GÊNEROS
PROXIMAMENTE RELACIONADOS**

Areia - PB
Dezembro –2018

HARRISON LUIZ SANTOS ROCHA

**DIVERSIDADE CARIOTÍPICA EM *Sida* (L.) (MALVACEAE) E GÊNEROS
PROXIMAMENTE RELACIONADOS**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado à Universidade Federal da
Paraíba, como parte das exigências para a
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Areia, 05 de Dezembro de 2018.

Orientadores: Prof. Ana Emília Barros e Silva

Msc. Sibelle Williane Dias dos Santos Inocêncio Alves

Areia – Paraíba
Dezembro – 2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R672d Rocha, Harrison Luiz Santos.

Diversidade Cariotípica em Sida (L.) (Malvaceae) e
Gêneros Proximamente Relacionados / Harrison Luiz Santos
Rocha. - Areia, 2018.
31 f. : il.

Orientação: Ana Emília Barros e Silva.
Coorientação: Sibelle Williane Dias Dos santos Inocêncio
Alves.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Heterocromatina. 2. Malvaceae. 3. Sida. 4. Cariótipo.
I. Barros e Silva, Ana Emília. II. Dos Santos Inocêncio
Alves, Sibelle Williane Dias. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

**DIVERSIDADE CARIOTÍPICA EM *Sida* (L.) (MALVACEAE) E GÊNEROS
PROXIMAMENTE RELACIONADOS**

HARRISON LUIZ SANTOS ROCHA

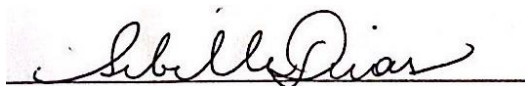
Monografia aprovada em: 05/12/2018

BANCA EXAMINADORA



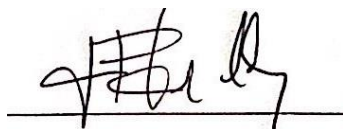
Prof. Ana Emília Barros e Silva (DCB/UFPB)

Orientadora



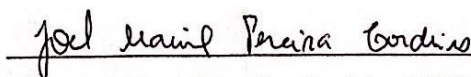
Msc. Sibelle Williane Dias dos Santos Inocência Alves (PPGCB/UFPE)

Orientadora



Prof. Dr. Leonardo Pessoa Félix (DCB/UFPB)

Examinador



Msc. Joel Maciel Pereira Cordeiro (PPGA/UFPB)

Examinador

Areia – Paraíba
Dezembro – 2018

Aos meus pais, pela dedicação, confiança
e amor, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Wellington Luiz e Lucidalva Messias. Duas pessoas nas quais tenho me inspirado desde criança. O comprometimento do meu pai com todas as responsabilidades independente das circunstâncias. Minha mãe, uma pessoa extraordinária, usou do pouco que tinha e enfrentou todas as dificuldades que o mundo nos acarreta, e junto com meu pai construíram uma vida por qual me espelho e sinto orgulho que transcende palavras. A forma que vocês me educaram, toda confiança, amor e uma incansável busca em me proporcionar o essencial para chegar aqui hoje, eu vos agradeço.

Agradeço a minha amada avó, Gedalva. É difícil colocar em palavras todos os sentimentos que sinto por você, toda gratidão, respeito e admiração. Hoje percebo o quão privilegiado sou por te ter ao meu lado, por todas as dificuldades que você enfrentou em uma época diferente, manter uma família grande que se diversifica em tamanhas personalidades, mas, nunca ter deixado que a vida te moldasse para uma pessoa sem amor, pois vó, amor é a palavra que eu uso para te definir. Por pequenos detalhes que você nunca deixou passar, por sempre me receber como se fosse a primeira vez, com um sorriso e um abraço esperançoso de felicidade genuína, minha eterna gratidão.

Aos meus amigos do colegial, Nathalie, Nina, Klébson, Denise e mais uma agregada paulista, Isadora. Crescer ao lado de vocês fez parte de um dos melhores momentos da minha vida, os levo eternamente apesar da distância diária, nossos momentos são únicos.

Agradeço por ter conhecido Thayse, a menina chegou em Areia pesando 40 quilos e hoje transformou-se numa esbelta mulher que luta contra os padrões da sociedade com seus atuais 70 quilos. Brincadeiras à parte, poder presenciar as mudanças que o tempo te causou com a visão que você tinha do mundo ao entrar na universidade é algo que me deixa bastante feliz. A nossa amizade começou devagar, ambos vivíamos realidades diferentes em questões de ideologia, tivemos altos e baixos, tivemos uma perda em nosso ciclo, o que de certa forma acabou nos aproximando mais pelas necessidades de preenchermos uma falta deixada ali. Em inúmeros momentos eu tive medo, medo de "aprovação" gerado por uma visão que tinha de você no início, mas, hoje este sentimento não existe mais. Crescemos juntos neste campus, você se tornou uma parte indispensável na minha vida acadêmica e pessoal, uma parte sólida que eu posso contar para qualquer

momento. Obrigado por estar ao meu lado e tentar compreender minha forma de ser um tanto quanto peculiar e complicada para maioria.

Agradeço aos amigos que obtive no CCA, Henrique, João, Edardna, Matheus, Thamísis, Jay, Gabriel, Jéssica, Cinthia e Thomas. Convivi por vocês por cerca de 4 anos e meio, com alguns mais que outros, mas, permaneci sempre com vocês, me cativaram a continuar ao redor de vocês, obrigado!. Também vale ressaltar dois amigos de suma importância que fiz no CCA, Lucas e Carem, ambos estão presentes em momentos consecutivos na minha vida, vivemos juntos determinadas situações, sou grato por vocês.

Meu obrigado a grande oportunidade de ter tido a professora Ana Emília como orientadora, compreensiva, presente e sempre me fazendo enxergar o lado positivo independente dos desafios, me inspira cada dia mais, obrigado.

A uma companheira de laboratório que mais tardar viria a tornar-se minha co-orientadora. Sibelle, meu muitíssimo obrigado por toda paciência em procurar me explicar coisas que são simples para alguns, mas que para mim nem tanto. Obrigado pelas orientações, ajudas e por ter sido mais que uma orientadora, uma amiga que tornou este trabalho possível.

Agradeço ao laboratório de Citogenética Vegetal, aos companheiros de laboratório, Achilles, Angeline, Rodrigo, Ingrid, Karla, Willian e Enoque. Obrigado pelas conversas e ajudas recorrentes.

Em especial ao Professor Leonardo Felix e Joel pelas ajudas em coletas e identificação das plantas, os dois tiveram um papel fundamental neste trabalho.

Aos professores do curso de Ciências Biológicas que moldaram a minha visão crítica e fizeram parte da construção do que sou hoje. Em especial aos professores: Carlos Henrique, Rosemberg Fernandes, David Holanda e Laís Borges por terem despertado grande anseio de conhecimento no meu ser.

"Do not pity the dead, Harry. Pity the living, and above all, those who live without love." (J.K. Rowling, Harry Potter and the Deathly Hallows)

Lista de Tabelas

Tabela 1: Nome das espécies e local de coleta.	20
Tabela 2: Caracterização dos cariótipos das espécies analisadas de <i>Sida</i> , <i>Sidastrum</i> e <i>Malvastrum</i>	22

Lista de Figuras

- Figura 1: Cromossomos metafásicos das espécies (a-c) *S. acuta*, (d-f) *S. rhombifolia* $2n = 14$, (g-i) *S. rhombifolia* $2n = 28$, (j-l) *S. glomerata*. Escala: $5\mu\text{m}$ 24
- Figura 2: Cromossomos metafásicos em *S. castanocarpa*. Em e, percebe-se um padrão heterocromático diferente das demais espécies de *Sida* analisadas. Em f é possível confirmar os números cromossômicos e de bandas heterocromáticas da espécie. Escala $5\mu\text{m}$ 25
- Figura 3: Cromossomos metafásicos e heterocromatina CMA⁺ em (a-c) *Sidastrum paniculatum* e em (d-f) *Malvastrum coromandelianum*. Escala $5\mu\text{m}$ 26

Resumo

O gênero *Sida* (Malvaceae) é um grupo heterogêneo, taxonomicamente mal resolvido, com delimitações a nível inter e infragenéricos não tão claras, tendo a maioria das abordagens baseadas em dados morfológicos. Neste sentido, os estudos citogenéticos têm se revelado uma excelente ferramenta para um melhor entendimento das relações taxonômicas e filogenéticas em diversos grupos de plantas, e um dos pontos estudados é a análise da heterocromatina, que por anos foi considerada "lixo genético", até que finalmente novos estudos apontaram sua importância nas análises citogenéticas e citogenômicas. No caso particular do gênero *Sida*, os poucos estudos citogenéticos existentes, são baseados quase que exclusivamente, na contagem cromossômica, que varia de $2n = 14$ a $2n = 32$. Apesar dessa abordagem ser considerada o ponto inicial de qualquer análise citotaxonômica, a caracterização da heterocromatina pode auxiliar na compreensão das relações evolutivas entre as espécies. Assim o objetivo deste trabalho foi caracterizar cariótipos de espécies de *Sida* e gêneros próximos, afim de fornecer informações que possam auxiliar na resolução de problemas taxonômicos. As análises com fluorocromos CMA e DAPI mostraram padrões diversificados de bandas heterocromáticas, o que proporcionou a diferenciação dessas espécies, do ponto de vista citogenético.

Palavras chave: Heterocromatina, Malvaceae, *Sida*, cariótipo

Abstract

The genus *Sida* (Malvaceae) is a heterogenous group, taxonomical unresolved, of which its inter and infrageneric boundaries are unclear. The majority of its approaches are based on morphological data. In this sense, the cytogenetic studies have proved to be an excellent tool for a better understanding of the taxonomic and phylogenetic relationships in various groups of plants. One of the topics researched is the analysis of the heterochromatin, which for years was only known as non-gene sequence area, "junk DNA", until new studies showed its specificity in cytogenetic and cytogenomics analysis. In the particular case of the genus *Sida*, the few cytogenetic studies are exclusively based on the chromosomal counting, which varies from $2n = 14$ to $2n = 32$. Despite the approaches being the starting point for any cytotaxonomic analysis, the characterization of the heterochromatin can aid in the understanding of the evolution relationship between the different species. The aim of this research was to characterise the karyotype of the *Sida* species and similar genera, to make clear taxonomic issues. The CMA and DAPI fluorochrome analysis showed diversified patterns of heterochromatic bands, as that said, bringing a new point of view in the differentiation of these species.

Key-words: Heterochromatin, Malvaceae, *Sida*, karyotype

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. Objetivos	16
2.1. Objetivo geral.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. Revisão de Literatura	16
3.1- Gênero <i>Sida</i> (L.)	16
3.2- Distribuição geográfica de <i>Sida</i> (L.)	17
3.3- Citogenética no gênero <i>Sida</i> (L.).....	18
3.4- Citogenética como ferramenta para evolução	19
3.5- Heterocromatina	20
4. Material e Métodos	21
4.1- Materiais	21
4.2- Métodos.....	22
<i>Preparação das lâminas e seleção das metáfases</i>	<i>22</i>
<i>Coloração com fluorocromos.....</i>	<i>22</i>
<i>Medição dos cromossomos.....</i>	<i>22</i>
5. Resultados e Discussão.....	23
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
7. REFERÊNCIAS	28

1. Introdução

Composta por cerca de 240 gêneros e 4.255 espécies (Stevens, 2008), a família Malvaceae transpõe barreiras geográficas, tornando-se uma família generalista, ou seja, cosmopolita. Malvaceae divide-se em nove subfamílias: Bombacoideae, Brownlowioideae, Byttncrioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Sterculioideae, Tilioideae e Malvoideae (Pordeus, 2016, Péchon & Gidorg, 2014). Seu maior ponto de endemismo está nas Américas e África, onde também é evidente sua maior diversidade (Hinsley, 2009, Stevens, 2008, Brandão-Neto, 2014).

Na família encontram-se gêneros de alto valor econômico como algodão (*Gossypium*spp.) e o cacau (*Theobroma cacao*), *Sida* destaca-se dentro da família por seu alto valor farmacológico que tem sido estudado na Índia ao longo dos anos, o potencial de algumas espécies como *S. cordifolia* e *S. rhombifolia* tem sido explorado dentro do gênero. Recentes análises nos principais gêneros comprovaram que o metabolismo secundário encontrando em Malvaceae tem padrões antifebris, anti-flamatórios, emolientes além do tratamento de reumatismo (Pordeus, 2016; Pereira, 2009).

Os estudos sobre as características morfológicas de Malvaceae são atualmente focados em sua inflorescência e flor, onde esses dois focos são os mais tradicionais (Bayer et al., 1999). Normalmente apresentam porte arbóreo, arbustivo e herbáceo, o que leva a compreender que são desde médio a grande porte (Almeida, 2016).

Entre os gêneros da subfamília Malvoideae, destacamos o gênero *Sida* (L.), este gênero foi descrito para unir espécies que apresentam muitos estames, sendo assim as poliândricas da classe Monadelphica. Este gênero é composto por cerca de 200 espécies cosmopolitas, com 12 seções de distribuição, onde as mais conhecidas são as espécies: *Sida rhombifolia* e *Sida cordifolia* (Brandão-Neto, 2014). Por apresentarem uma alta agressividade em invasão de culturas são conhecidas como “daninhas” (Vasconcelos et al., 2012).

Algumas espécies do gênero *Sida* têm sido estudadas em diversas áreas da medicina. *S. rhombifolia* (Islam et al., 2003) foi relatada com um forte uso fitoterápico na Índia, o que levou à pesquisas envolvendo seu potencial citotóxico e antibacteriano. Já *S. cordifolia*, popularmente conhecida como "Bala" na Índia, é utilizada como um fitofármaco (Karam et al., 2012).

Por ser um dos maiores gêneros dentro da família Malvaceae, *Sida* consequentemente enfrenta diversos problemas taxonômicos, onde suas delimitações a nível inter e infragêneros não são claras. Após utilizar o número cromossômico como uma forma

alternativa para classificar Malveae, Bates (1968) dividiu Malveae em 54 gêneros e 13 alianças genéricas, e desde então, essa divisão tem sido uma das poucas formas de classificar e separar espécies desta tribo. Anos depois, alguns estudos envolvendo a morfologia do fruto e caracteres do pólen (Fryxell, 1971, 1988) acarretou na segregação de determinados grupos pertencente a aliança Abutilion, e neste momento a aliança genérica de *Sida* surgiu, aliança essa que apresentava um número cromossômico básico de $x=7$ e 8. Fryxell & Fuertes (1992) sugeriram que *Akrosida* e *Sidasodes* também deveriam fazer parte da aliança genérica de *Sida*, mesmo que eles apresentassem um número básico de $x=5$, o que destoava completamente dos previstos para tal aliança, agravando cada vez mais a compreensão e identificações das espécies desta aliança. As segregações e criações de alianças a partir de Malveae levando em consideração apenas alguns padrões de caracterização liderou a este grande problema taxonômico dentro de *Sida* (Fuertes et al., 2003)

Do ponto de vista citogenético, as espécies do gênero *Sida*, até agora estudadas, possuem números cromossômicos variáveis ($2n = 14$ até $2n = 32$) (Vankatesh et al., 2015), mostrando que este grupo deve ter sofrido algum evento de ploidia durante a evolução. Pela baixa quantidade de espécies estudadas até o momento, ainda é muito cedo apontar se tais eventos realmente ocorreram.

A caracterização citogenética tem sido bastante utilizada para auxiliar na resolução de problemas taxonômicos. Um exemplo disto é o que tem sido feito em espécies do gênero *Citrus*, que apresentam o mesmo número cromossômico para a grande maioria das espécies, todos com tamanhos bastante uniformes, o que torna difícil o reconhecimento de uma espécie a nível cromossômico. Assim, a partir desta problemática, o bandeamento com fluorocromos se tornou uma alternativa eficaz para caracterizar o cariótipo das espécies de *Citrus*, e isto tem sido utilizado como suporte para estudos taxonômicos (Guerra et al., 2000; Samuel et al., 2001, Barros e Silva et al., 2010). Outro exemplo é o caso do gênero *Nothoscordum*, que apresenta números cromossômicos básicos $x=4$ e $x=5$. O bandeamento por fluorocromos, as técnicas de Hibridização *in situ* Fluorescente (FISH), Hibridização Genômica *in situ* (GISH) e as análises de filogenia molecular permitiram compreender a origem híbrida entre espécies muito próximas (*N. gracile* e *N. bonariense*) e demais espécies afins (Souza et al., 2012).

Tendo em vista tais situações, a utilização da caracterização citogenética tem se mostrado uma importante ferramenta para melhor compreensão dos problemas taxonômicos (Bastaniel et al., 2001).

No gênero *Sida*, a maior parte das espécies que tem seu cariótipo estudado são oriundas no norte da Índia. Considerando que muitas espécies que ocorrem no Brasil, sequer tiveram seu número cromossômico identificado, torna-se necessário que mais estudos sejam feitos com o objetivo de caracterizar citogeneticamente essas espécies, para contemplar o maior número possível de representantes do gênero e poder auxiliar no estabelecimento de uma filogenia mais sólida para este grupo.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Caracterizar cariótipos de espécies do gênero *Sida* e gêneros relacionados a fim de fornecer dados que contribuam para o entendimento da evolução cariotípica e das relações taxonômicas do grupo.

2.2. Objetivos específicos

Determinar o número cromossômico das espécies analisadas.

Localizar e determinar o padrão de distribuição da heterocromatina das espécies analisadas.

Fornecer subsídios que possam auxiliar em um melhor entendimento das relações taxonômicas e da evolução cariotípica do grupo.

3. Revisão de Literatura

3.1- Gênero *Sida* (L.)

A família Malvaceae é composta por cerca de 240 gêneros, entre eles o gênero *Sida*, que é considerado um dos mais heterogêneos dentro da família. Suas respectivas espécies podem ser facilmente identificadas e distinguidas de outras por duas características morfológicas principais: cálice que, frequentemente, apresenta 10 nervuras, e frutos compostos de 5 a 10 mericarpos (Brandão et al., 2017). *Sida* tem sido permanentemente estudado (ver Noor et al., Hazra & Sharma, 1971), entretanto permanece considerado como um grande problema taxonômico, devido a sua alta taxa de variabilidade (Verdcourt, 2004). Alguns gêneros já foram segregados de *Sida*, que é visto como um grupo potencialmente artificial (que usa características visíveis para distinguir dois organismos, mas que não revelam o real parentesco entre os mesmos). Essa segregação em formação de novos grupos naturais vindo de *Sida*

reduziram consideravelmente a sua artificialidade. O gênero *Malvella* Jaub. & Spach recebeu quatro novas espécies que antes pertenciam à *Sida* e que eram vistas como anomalias dentro do gênero. Foi necessário análises à fundo sobre o mericarpo para chegar a tal decisão (Fryxell, 1978).

Mesmo com diversas exclusões e realocações dentro do gênero, *Sida* permanece, de longe, sendo um dos maiores problemas taxonômicos dentro de Malvaceae, comportando inúmeros problemas com espécies que precisam de mais estudos para uma melhor clareza, além da grande quantidade de sinônimos (Siedo, 1999).

Grande parte das espécies de *Sida* são consideradas "daninhas", inúmeros trabalhos para o combate das mesmas são realizados, pois plantas daninhas geram perda na produtividade agrícola, uma vez que as mesmas disputam por água, luz e nutrientes, além de serem mais resistentes que as espécies de sua competição (Silva et al., 1998). Para o controle dessas espécies de *Sida* consideradas importantes "daninhas", estudos envolvendo a utilização de múltiplas aplicações de flumiclorac-pentil foram realizados no norte e noroeste do Paraná, onde *S. rhombifolia*, *S. spinosa*, *S. cordifolia* e *S. glaziovii* são encontradas em abundância. Os resultados mostraram que as aplicações contínuas de flumiclorac-pentil foi mais eficaz se comparada a aplicação da dose única. (Constantin., 2007).

3.2- Distribuição geográfica de *Sida* (L.)

O gênero comporta cerca de 200 espécies cosmopolitas distribuídas em 12 seções: *Cordifoliae*(24 spp.), *Distichifolia*(16 spp.), *Ellipticifoliae*(9 spp.), *Hookerianae*(2 spp.), *Malacroideae*(23 spp.), *Muticae*(11 spp.), *Nelavagae*(30 spp.), *Oligandrae*(4 spp.), *Pseudonapaea*(1 spp.), *Sidae*(49 spp.), *Spinosa*(18 spp.),e *Stenindae*(2 spp.), apresentam uma alta distribuição neotropical, desta forma, várias espécies são encontradas nas Américas, principalmente no Brasil com seus pontos principais sendo no Nordeste e Sul (Brandão et al., 2017, Brandão-Neto, 2014, Silva et al., 2006).

Com 113 espécies ocorrendo no Brasil (Brandão et al., 2017), Barbosa et al., 2004 realizou um levantamento florístico na Mata do Pau-Ferro, Areia/PB, onde encontrou 11 espécies de *Sida* (L.), *S. acuminata* DC., *S. acuta* Burm.f., *S. aurantica* A. St.-Hil., *S. cordifolia* L., *S. galheirensis* Ulbr., *S. glomerata* Cav., *S. linifolia* Cav., *S. micrantha* A. St.-Hil., *S. purpurascens* Salzm., *S. rhombifolia* L., *S. urens* L. Destas 11, apenas 6 possuem seu

número cromossômico divulgado. Acredita-se que o número cromossômico básico desse gênero seja $x=7$ (Brandão et al., 2017).

3.3- Citogenética no gênero *Sida* (L.)

Os estudos citogenéticos dentro do gênero são extremamente escassos, mas, Ugborogho (1982) realizou testes citogenéticos em *S. rhombifolia* e seus complexos. Ele analisou cromossomos mitóticos e meióticos de *S. rhombifolia* e das subespécies *S. rhombifolia* subs. *alnifolia* um tetraplóide, *S. rhombifolia* subs. *rhombifolia* e *S. rhombifolia* subs. *retusa*, espécies diplóides. A contagem cromossômica foi realizada numa população de 20 indivíduos, onde 6 desses se mostraram tetraplóides possuindo $2n = 28$, diferindo das remanescentes diplóides que apresentaram $2n = 14$. Os cromossomos eram pequenos e visualmente idênticos, requerendo uma melhor análise do cariótipo. O resultado do ciclo meiótico entre as amostras mostrou-se normal, podendo afirmar que mesmo o número cromossômico base do gênero *Sida* variando em $x=7$, 8 e 11, o complexo de *Sida rhombifolia* mostrou um número básico $x=7$.

Estudos realizados em diferentes tipos de *Sida* na Índia, demonstraram uma melhor análise do cariótipo, com cromossomos apresentando tamanhos considerados pequenos, variando de 1.3 - 2.9 μ m em *S. acuta*, 1.3 - 2.5 μ m em *S. cordifolia*, 1.1 - 3 μ m em *S. glutinosa*. Ao analisar os cariótipos, foi percebido um padrão comum em sua morfologia. Os cariótipos, em sua maioria apresentaram desde tamanhos pequenos a médios, já as constrições foram metacêntricas ou submetacêntricas. De certa forma, algumas espécies demonstraram pequenas mudanças no cromossomo de taxas parentais, podendo ser considerado um dos fatores de rearranjo que causaram o processo de evolução (Hazra & Sharma, 1971).

Venkatesh (et al., 2015) realizou estudos de análise do número cromossômico e cariotípico de algumas espécies de *Sida*. Ele constatou que o número cromossômico em *Sida* não partiu de apenas um único número básico, e sim de múltiplos números básicos, tais como $x=7$, 8, 9, 11. Porém, o número básico $x=7$ apareceu como maior frequência. Em relação as análises detalhadas do cariótipo, Venkatesh (et al., 2015) notou que os resultados corroboram com análises já realizadas: cromossomos pequenos e majoritariamente homogêneos, mas, todas as espécies apresentam particularidades individuais.

3.4- Citogenética como ferramenta para evolução

Com o passar dos anos, a união dos estudos de citologia e genética tornaram-se uma poderosa ferramenta para estudos de evolução, o que tornou possível explicar diversos fatores evolutivos tanto na área de botânica quanto outras áreas das Ciências Biológicas. Algumas técnicas citogenéticas como a utilização de marcadores moleculares, têm sido indispensáveis para a compreensão dos menores fatores relacionados a evolução cromossômica, fatores esses que agiram durante milhares de anos e passaram despercebidos até o aperfeiçoamento de tais técnicas. O isolamento de genes de DNA ribossomal (DNAr 35S e 5S) começaram a ser utilizados como marcadores citomoleculares, podendo se ligar às regiões do cromossomo que possuem essa mesma sequência em tandem e, desta forma, esses padrões fornecem fatores evolutivos a nível cromossômico além de poder solucionar problemas filogenéticos em espécies do mesmo gênero (Yakloveat et al., 2017).

Muravenko (et al., 2009) procurou investigar as relações interespecíficas e evolucionárias do Linho e seus derivados a partir de técnicas citogenéticas como bandeamento por fluorocromos e FISH, um melhor estudo do genoma usando tais ferramentas.

Armstrong & Filatov (2008) avaliaram os aspectos citogenéticos nos estágios iniciais da evolução dos cromossomos sexuais em *Silene latifolia*. As discussões emergentes sobre o assunto, levantaram questionamentos sobre as diferenças que ocorreram no processo evolutivo de cromossomos sexuais de animais e plantas. Utilizando mapeamento citogenético (FISH), foi possível chegar a um melhor entendimento desse processo evolutivo tanto em *Silene latifolia*, como em plantas de forma geral.

Divashuk (et al., 2014) utilizou métodos citogenéticos para análises do cariótipo de *C. sativa* que não haviam sido utilizados em estudos recorrentes. Com o bandeamento DAPI e a utilização de sondas de DNA ribossomal 5S e 35S, o interesse nessas técnicas surgiu com o fato de que os estudos envolvendo mapeamento genômico utilizando (FISH) mostrou-se cada vez mais eficaz. Divashuk (et al., 2014) enfatizou que até o momento do trabalho, nenhum mapeamento do cromossomo Y em plantas havia sido terminado, apenas uma pequena região do cromossomo Y em papaya (*Carica papaya* L). Com as primeiras avaliações, foi capaz de supor que o genoma de *C. sativa* seria pequeno, então, com os resultados básicos de citogenética molecular na estrutura genômica de *C. sativa* e de seus cromossomos sexuais, pode gerar o primeiro passo para o mapeamento completo do genoma em *C. sativa*.

3.5- Heterocromatina

Por anos a heterocromatina permaneceu como uma dúvida para milhares de pesquisadores, alguns consideravam aquela parte repetitiva de DNA apenas como "lixo genético" (Henning, 1999). Heitz (1928) sugeriu que a heterocromatina poderia ser encontrada em dois tipos, uma heterocromatina que mantinha sua estrutura condensada em todo o processo do ciclo celular, e a "eucromatina" que diferente da primeira, pode apresentar um período de não condensação, alternando entre condensar-se e não condensar-se.

A heterocromatina está presente nos telômeros, centrômeros e também pode aparecer em blocos nas regiões intersticiais dos cromossomos estando presente nos telômeros e nas regiões centroméricas e pericentroméricas de alguns cromossomos, inclusive sexuais. (Avramova, 2002). Podendo ser classificada como heterocromatina constitutiva, que se mantém fixa em uma região do cromossomo, ou heterocromatina facultativa, alternando entre heterocromatina e eucromatina. A constitutiva possui DNA satélite em sua formação, região normalmente pobre em genes. Ao contrário, a facultativa possui genes em sua constituição, além da alta taxa de presença em diversos locais (Park & Kuroda, 2001).

Com o avanço das ciências e o crescimento das áreas de estudo, principalmente envolvendo ferramentas citogenéticas, pesquisadores passaram a dar mais atenção a presença da heterocromatina, e de como ela pode influenciar em diversos fatores de padrões evolutivos, com algumas técnicas citogenéticas como a utilização de fluorocromos, é possível identificar partes ricas em GC e AT, determinando padrões e sequências heterocromáticas (Guerra et al., 2000).

4. Material e Métodos

4.1- Materiais

As espécies analisadas, com os locais e números de coleta estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Nome das espécies e local de coleta.

Subtribo	Seção	Nome da espécie	Localização	Voucher
Abutilinae	<i>Sida</i>	<i>Sida acuta</i>	Areia-PB	JMP, Cardoso 1387 LP, Felix 17715
		<i>Sida rhombifolia</i>	Areia-PB	JMP, Cardoso 1390 JMP, Cardoso 1391
	<i>Spinosae</i>	<i>Sida glomerata</i>	Areia-PB	JMP, Cardoso 1388
	<i>Malacrhoideae</i>	<i>Sida castanocarpa</i>	Parnaíba/PI	LP, Felix 17632
		<i>Sidastrum paniculatum</i>	Areia-PB	LP, Felix 17645
Malvinae		<i>Malvastrum coromandelianum</i>	Areia-PB	JMP, Cardoso 1389

Após a coleta os exemplares das espécies investigadas foram cultivados no jardim experimental do Laboratório de Citogenética Vegetal, e o material testemunho de cada espécie foi depositado no herbário Jayme Coelho de Moraes, ambos no Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba, Campus II.

Para análises citológicas, pontas de raízes obtidas a partir de plantas cultivadas em jarros passaram por pré-tratamento com 8-hidroxiquinoleína (0,002 M) por 24h a 10 °C, fixadas em 3:1 etanol-ácido acético (v/v) por 2-22 h à temperatura ambiente e estocadas em freezer a -20°C para utilização nas análises posteriores.

4.2- Métodos

Preparação das lâminas e seleção das metáfases

Para preparação das lâminas, o material foi lavado em água destilada e digerido com uma solução enzimática contendo 2% celulase e 20% pectinase por 2 h a 37°C. Em seguida, as lâminas foram preparadas pelo método de esmagamento, em uma gota de ácido acético 45% e as lamínulas retiradas em nitrogênio líquido. Após este processo, as lâminas foram coradas com uma solução de DAPI-Glicerol (1:1) para seleção das melhores metáfases. As lâminas selecionadas foram descoradas com fixador 3:1 etanol-ácido acético (v/v), por meia hora, mergulhadas em etanol (v) por 2h e envelhecidas por três dias em câmara escura, para análise posterior.

Coloração com fluorocromos

As lâminas foram envelhecidas por três dias e posteriormente coradas com os fluorocromos Cromomicina A₃ (CMA) e 4',6-diamidino-2-fenilindole (DAPI), seguindo o descrito por (Barros-Silva & Guerra, 2010). As lâminas foram coradas com uma gota de CMA (0,1mg/ml), por 1 h, lavadas com seguidos jatos de água destilada e secas. Em seguida, coradas com uma gota de DAPI (1µg/ml) por 30 min, novamente lavadas com água destilada, secas e montadas em tampão 1:1 McIlvaine-glicerol.

As imagens das células foram capturadas pela câmera AxioCam MRc (Carl Zeiss Vision GmbH, München Hallbergmoos, Germany) acoplada ao microscópio Zeiss Scope.A1 (Carl ZeissMicroImagingGmbH, Göttingen, Germany) usando o sistema de captura AxioVision v.4.8.. O programa Adobe Photoshop CS6 foi utilizado para melhorar o brilho e o contraste das imagens e fazer a sobreposição das mesmas.

Medição dos cromossomos

A medição dos cromossomos foi feita de acordo com Medeiros-Neto (2017) A relação de braços ($r = \text{comprimento do braço longo} / \text{comprimento do braço curto}$) foi usada para classificar os cromossomos como metacêntrico (M: $r = 1,00$ a $1,49$), submetacêntrico (S: $r = 1,50$ a $2,99$), acrocêntrico (A: $r = 3,00$) e telocêntrico (T: $r = \infty$), utilizando o programa Imagetool® software versão 3.0 (disponível em <http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>) configurado com escalas disponíveis nas imagens selecionadas.

5. Resultados e Discussão

O número cromossômico nas espécies investigadas variou de $2n = 14$ a $2n = 28$. Os cariótipos de todas as espécies foram simétricos, formados por cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, de tamanhos pequenos a medianos ($1,44\mu\text{m}$ a $4,29\mu\text{m}$). Em relação ao padrão heterocromático observado com os fluorocromos CMA e DAPI, todas as espécies apresentaram bandas cromossômicas CMA positivas (CMA^+) enquanto bandas cromossômicas DAPI positivas (DAPI^+) foram ausentes. Os resultados obtidos no presente trabalho, estão sumarizados na tabela 2.

Tabela 2: Caracterização dos cariótipos das espécies analisadas de *Sida*, *Sidastrum* e *Malvastrum*.

Subtribo	Seção	Nome da espécie	$2n$	Bandas CMA^+	Varição do tamanho cromossômico (μm)	Fórmula cariotípica
Abutilinae	<i>Sida</i>	<i>Sida acuta</i>	28	4	1,92-3,96	20M+8S
		<i>Sida rhombifolia</i>	14	2	2,16-3,74	4M+10S
		<i>Sida rhombifolia</i>	28	4	1,75-2,38	20M+8S
	<i>Spinosae</i>	<i>Sida glomerata</i>	14	2	1,44-4,29	12M+2S
	<i>Malachroideae</i>	<i>Sida castanocarpa</i>	16	8	1,32-3,24	10M+6S
		<i>Sidastrum paniculatum</i>	16	4	1,93-2,95	14M+2S
Malvinae		<i>Malvastrum coromandelianum</i>	24	3	2,09-3,32	10M+14S

Foram investigadas duas espécies do gênero *Sida* representantes da seção *Sida*, *S. acuta*, *S. rhombifolia*. Os indivíduos de *S. acuta* analisados, apresentaram $2n = 28$ (20M+8S; Fig.1 a). Para essa espécie foram observadas quatro bandas CMA^+ , localizadas na região terminal de dois pares cromossômicos (Fig.1 b, c). Esses dados corroboram os resultados prévios descritos por Venkatesh (et al., 2015) e Noor (et al., 2003).

Dois indivíduos da espécie *S. rhombifolia* foram analisados e divergiram quanto ao número cromossômico e ao padrão de bandas heterocromáticas. Um indivíduo apresentou um citótipo com $2n = 14$ (Fig.1 d), onde um par de cromossomos possuía uma banda CMA^+ na região terminal (Fig.1 e). Por outro lado, o segundo indivíduo analisado apresentou $2n = 28$

(Fig.1 g), dos quais dois pares cromossômicos continham uma banda CMA⁺ na região terminal (Fig.1 h). A duplicação do número cromossômico e das bandas sugerem que este último citótipo se originou por poliploidia (Fig.1. f, i).

Sida rhombifolia têm se mostrado uma das espécies mais variáveis dentro do gênero *Sida* (Ugborogho, 1982). A ocorrência de variação cromossômica intraespecífica, relacionada com o nível de ploidia não é um evento raro em plantas. Citótipos poliploides, por exemplo, foram encontrados entre e dentro de diferentes populações de *Oxalis obtusa* no sul da África (Krejčíková et al., 2013). Neste caso a variação encontrada foi de $2n = 14$ a $2n = 56$, ou seja, o nível de ploidia observado foi de diplóide a octaploide. Cordeiro et al (2017), analisando duas populações de *Inga laurina* observaram que as mesmas divergiam quanto ao número cromossômico, uma apresentava $2n = 26$ e a outra $2n = 52$. A poliploidia é um dos principais fenômenos envolvidos na evolução cariotípica e na especiação vegetal, e em vários casos está relacionado com a formação de gametas não reduzidos. (Krejčíková et al., 2013).

A única representante da seção *Spinosa* analisada, *S. glomerata*, apresentou $2n = 14$ (12M+2S; Fig.1 j) e um par de cromossomos com uma banda CMA⁺ na região terminal (Fig.1 k, l). De uma forma geral, em plantas, pelo menos um par de bandas CMA⁺ está associada aos sítios de DNAr 35S (ver Marcon et al., 2005). Dessa forma, é possível sugerir que as bandas CMA⁺ relatadas no presente trabalho para os cariótipos de *S. acuta*, os indivíduos diplóides e tetraplóides de *S. rhombifolia* e *S. glomerata* correspondam aos sítios de DNAr nessas espécies.

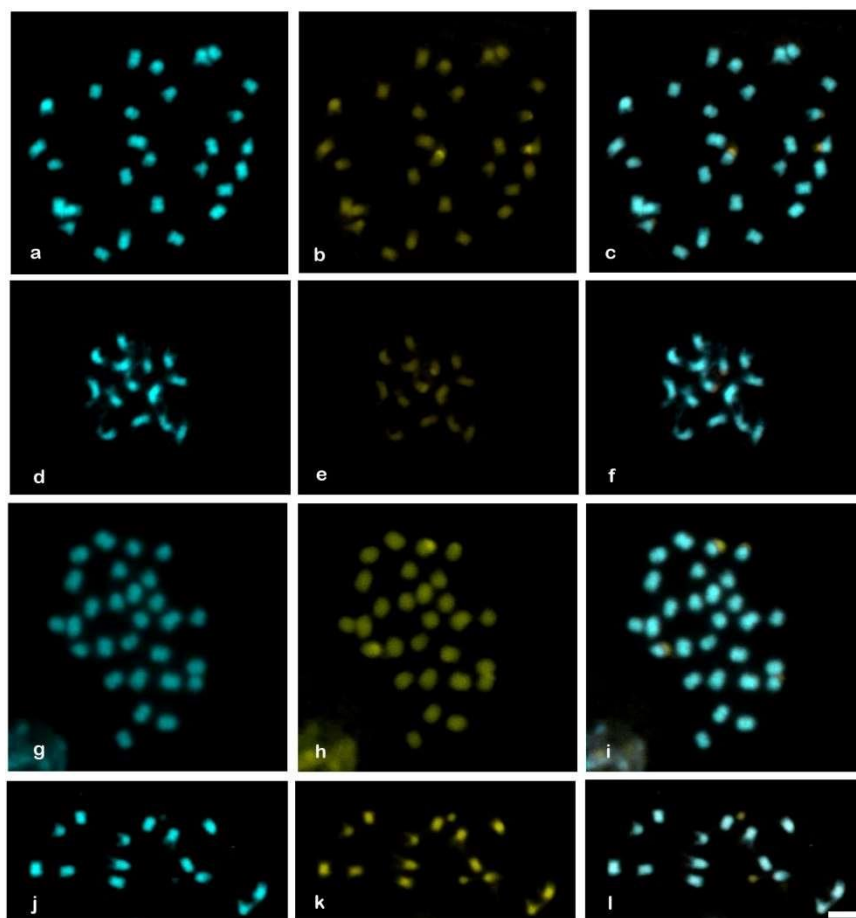


Figura 1: Cromossomos metafásicos das espécies (a-c) *S. acuta*, (d-f) *S. rhombifolia* $2n = 14$, (g-i) *S. rhombifolia* $2n = 28$, (j-l) *S. glomerata*. Escala: $5\mu\text{m}$.

Este é o primeiro trabalho de contagem cromossômica para a espécie *S. castanocarpa*. Esta espécie apresentou $2n = 16$ (Figura 2 a, d) cromossomos (10M+6S) com seis bandas CMA⁺ na região terminal de seis cromossomos e duas bandas CMA⁺ na região pericentromérica do maior par cromossômico metacêntrico (Figura 2 b, c, e, f). *S. castanocarpa* está inserida, na seção Malachroideae, condizente com o número básico proposto de $x=8$ (Aguilar et al., 2003) O número cromossômico e de bandas heterocromáticas diferiu consideravelmente das demais espécies de *Sida* analisadas até o momento. Possivelmente outras sequências de DNA repetitivo, além das sequência de DNAr devem estar envolvidas na formação da heterocromatina dessa espécie, mas isso precisa ser melhor investigado.

As figuras 2 c e 2 f, mostram dois níveis de condensação em *S. castanocarpa*. Células menos condensadas podem levar à uma interpretação errônea do número cromossômico e também do número de bandas heterocromáticas. Neste sentido, pode ser observado na figura 2 c um suposto número maior de bandas heterocromáticas em $2n = 16$ cromossomos, porém, na figura 2 f, com cromossomos mais condensados, aparecem oito bandas CMA⁺, mas continua

apresentando $2n = 16$ cromossomos, concordando com o número básico proposto, $x=8$, considerado mais ancestral (Aguilar et al., 2003). Uma análise mais detalhada, envolvendo um maior número de espécies, poderá ajudar a verificar se a redução do número cromossômico ao longo da evolução foi acompanhada ou não de perda de sequências repetitivas.

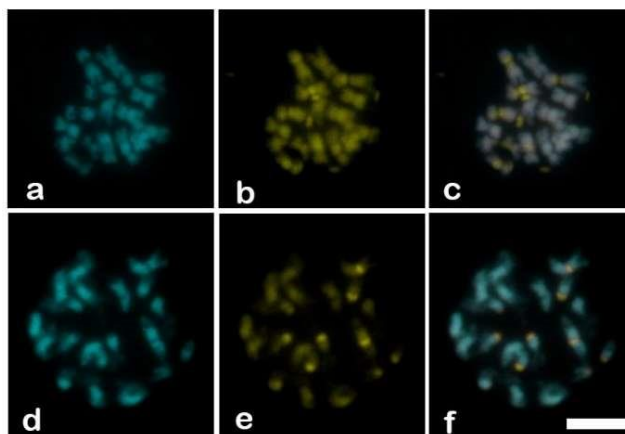


Figura 2: Cromossomos metafásicos em *S. castanocarpa*. Em e, percebe-se um padrão heterocromático diferente das demais espécies de *Sida* analisadas. Em f é possível confirmar os números cromossômicos e de bandas heterocromáticas da espécie. Escala 5 μ m.

O gênero *Sidastrum* foi inicialmente proposto com um gênero monoespecífico, constituído por *S. quinquenervium*. Posteriormente, Fryxell transferiu sete espécies neotropicais do gênero *Sida* para *Sidastrum* (Wang et al., 2017). Os limites morfológicos entre esses dois gêneros não são claros (Aguilar et al., 2003), o que dificulta as delimitações taxonômicas entre os mesmos. No presente trabalho o representante do gênero analisado, *S. paniculatum* apresentou número cromossômico $2n = 16$ (14M+2S; Fig.3 a), dos quais dois pares continham uma banda terminal CMA⁺ (Fig3 b, c). Possivelmente essas bandas CMA estão relacionadas com os sítios de DNAr 35S, contudo, esses dados só poderão ser confirmados após a localização cromossômica dessa sequência através da hibridização *in situ* fluorescente. O único registro prévio de número cromossômico encontrado para o gênero foi $2n = 32$ em *Sidastrum micranthum*. Os dados obtidos no presente trabalho corroboram com o entendimento da natureza poliplóide de *S. micranthum* (Krapovickas, 1969) e confirma o número básico proposto para o gênero $x=8$ (Aguilar et al., 2003).

Mesmo sendo de subtribos distintas os gêneros *Malvastrum* e *Sida* não possuem uma delimitação morfológica muito clara e a única maneira de separar esses dois grupos é por meio da morfologia do fruto (Bovini et al., 2001).

A análise cariotípica da amostra investigada de *M. coromandelianum* confirmou o número cromossômico previamente estabelecido para essa espécie ($2n = 24$) por Skovsted (1935) (Fig.3 d), diferindo de *Sida*, que não apresentou nenhuma espécie com este número, mesmo tendo uma variância de $2n = 14$ a $2n = 32$. O tamanho cromossômico em *Malvastrum coromandelianum* variou entre $2\mu-3,32\mu$, sendo maiores que os de *Sida*, e apresentou quatro bandas CMA⁺ terminais (Fig.3 d- f). O número básico considerado para esse gênero é $x=6$ (Fryxell & Hill, 1977) e o número de bandas CMA⁺ fornece suporte a hipótese que *M. coromandelianum* seja um tetraploide $2n = 4x$.

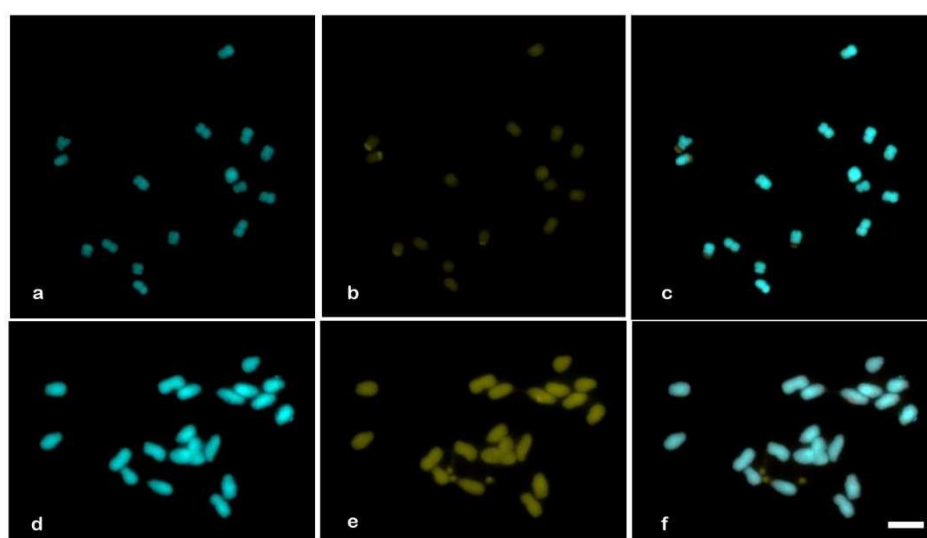


Figura 3: Cromossomos metafásicos e heterocromatina CMA⁺ em (a-c) *Sidastrum paniculatum* e em (d-f) *Malvastrum coromandelianum*. Escala 5 μ m.

Todas essas diferenças citogenéticas intra e interespecíficas em *Sida*, sugerem que a caracterização cromossômica é de fundamental para auxiliar nas identificações taxonômicas, já que existem tantas particularidades em cada espécie. Assim, a caracterização do cariótipo aparece como uma "identidade pessoal" para as espécies analisadas.

Faz-se necessário estudos de citogenética mais amplos e que abranjam mais espécies, para melhor caracterizar os cariótipos das espécies do grupo e oferecer maiores contribuições na diferenciação citotaxonômica das espécies.

6. Considerações finais

Estudos citogenéticos com o gênero *Sida* ainda são poucos. Este é um dos primeiros trabalhos de caracterização cariotípica e da heterocromatina do gênero e de espécies próximas, onde foi possível tanto confirmar prévias contagens, quanto fazer novas contagens para as espécies estudadas.

Graças ao estudo da heterocromatina foi identificado um citótipo poliplóide, pois além do número cromossômico, o número de sítios CMA⁺ foi o dobro do citótipo diplóide. Sem o estudo da heterocromatina, esse citótipo poliplóide poderia ser confundido com outra espécie, do ponto de vista citogenético.

O padrão de bandas heterocromáticas se assemelha nas duas subtribos, podendo as espécies ter de duas a quatro bandas CMA⁺, entretanto, o número cromossômico básico difere, mesmo entre os gêneros da mesma subtribo (*Sida* e *Sidastrum*), correspondendo a $x=7$, nas espécies de *Sida* e a $x=8$ nos gêneros *Sidastrum* e *Malvastrum*; Isto sugere que ao longo do processo evolutivo, está havendo uma diminuição no número cromossômico das espécies, salvo os casos de poliploidia.

7. Referências

- ARMSTRONG, S.J; FILATOV, D.A. **A Cytogenetic View Of Sex Chromosome Evolution In Plants.** *Cytogenetic Genome Res*, v.120, p. 241-246, 2008.
- AGUILAR, J.F; FRYXELL, P.A; JANSEN, R.K. **Phylogenetic Relationships And Classification Of The Sida Generic Alliance (Malvaceae) Based On nrDNA Its Evidence.** *Systematic Botany*, v.28, n. 2, p. 352-364, 2003.
- ALMEIDA, S. **Malvaceae, Família.** Disponível em: <<http://knoow.net/ciencterravida/biologia/malvaceae-familia/>>. Acessado em: 02 de junho de 2018.
- ALMEIDA, V.S e GONÇALVEZ, V.M. **Estudo Taxonômico Com Malvaceae: Sida L. Seção Sidae No Estado De São Paulo.** Universidade Paulista (UNIP). Agosto 2009 à julho 2010.
- AVRAMOVA, Z.V. **Heterochromatin In Animals And Plants: Similarities And Differences.** *PlantPhysiol*, v.129, p. 40-49. 2002.
- BARROS-SILVA, A. E; GUERRA, M. **The Meaning Of Dapi Bands Observed After C-Banding and Fish Procedures.** *Biotech Histochem*, v.85, n.2, p.115-125, 2009
- BARBOSA, M.R.V. et al. **Diversidade Florística Na Mata Do Pau Ferro, Areia, Paraíba.** Pp. 111-122. In: Pôrto, K.C.; Cabral, J.J.P. & Tabarelli, M. (orgs.). Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba: História Natural, ecologia e conservação. Brasília, Ministério do Meio Ambiente. 2004.
- BATES, D.M. **Generic relationships in the Malvaceae, tribe Malveae.** *Gentes Herbarum*, v.10, p. 117–135, 1968.
- BASTIANEL, M. et al. **Caracterização De Genótipo De Citrus Spp. Através De Marcadores RAPD.** *Cienc. Rural*, v. 31 n.5, 2001.
- BAYER, C. et al. **Support For Anexpanded Family Concept Of Malvaceae Within A Recircumscribed Order Malvales: A Combined Analysis Of Plastid Atpb And Rbcl Dna Sequences.** *Botanical Journal of The Linnean Society*, v. 129, p.267-303, 1999.
- BOVINI, M.G. **Sida In Lista De Espécies Da Flora Do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9203>> . Acesso em: 08 de junho de 2018.
- BOVINI, M.G; CARVALHO-OKANO, R.M; VIEIRA, M. F. **Malvaceae A. Juss. No Parque Estadual Do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil.** *Rodriguésia* v.52, v.81, p.17-47. 2001

BRANDÃO-NETO, J.L.S. 2014. **O Gênero *Sida* L. (Malvaceae) No Estado De Pernambuco, Brasil**. Universidade Federal Rural De Pernambuco. Dissertação (Mestrado Em Botânica). Recife.

BRANDÃO, J.L. et al. **Synopsis Of *Sida* (Malvaceae, Malvoideae, Malveae) In The State Of Pernambuco, Brazil**. *Phytotaxa* v.307, n.3, p. 205-227, 2007.

BRAMMER, S.P.; TONIAZZO, C.; POERSCH, L.B.; Corantes **Comumente Empregados Na Citogenética Vegetal**. *Biotechnology / Scientific Communication*, p.1-8 . 2015

CARVALHO, R. et al. **The Relationships Among Lemons, Limes, And Citron: A Chromosomal Comparison**. *Cytogenetic and Genome Research*. p. 277 - 281. 2005

CONSTANTIN, J. et al. Controle De Diferentes Espécies De Guanxuma Com Aplicações Sequenciais De Flumicorac-Pentil. **Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal** 2007

CORDEIRO, J.M.P. et al. **IAPT/IOPB chromosome data 24**. *TAXON*, v.66, n.1, p. 275–277, 2017

DIVASHUK, M.G. et al. **Molecular Cytogenetic Characterization Of The Dioecious Cannabis Sativa With An Xy Chromosome Sex Determination System**. *PLoS ONE*, v.9, n.1, p.85-118, 2014.

FEITOZA, L.L. **Alismatales Sensu Strictu: Análise Citogenética Com Técnica Convencional, Bandeamento E Sítios De Dna 45s**. 80f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2008

FRYXELL, P.A. **A New Genus From Mexico: *Dendrosida* (Malvaceae)**. *Brittonia* v.23, p.231–237, 1971.

FRYXELL, P. A.; HILL, S. R. **More on the typification of *Malvastrum* (DC.) A. Gray (Malvaceae)**. *Taxon*, v.26, n. 2/3, p. 332-336, 1977.

FRYXELL, P.A. **Neotropical Segregates From *Sida* L. (Malvaceae)**. *Brittonia*, 30(4), 1978, p. 447-462. *The New York Botanical Garden, Bronx, NY*. 1978

FRYXELL, P. A. **Malvaceae of Mexico**. *Systematic Botany Monographs* 25: 1–522. 1988.

FRYXELL, P.A; FUERTES, J. **A reevaluation of the *Abutilothamnus* complex I. A new species and two new genera, *Sidasodes* and *Akrosida***. *Brittonia* v.44, p. 436–447, 1992.

GUERRA, M. **Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes**. *Genetics and Molecular Biology*, v.23, n.4, p. 1029-1041, 2000.

HINSLEY, S.R. **The Malvaceae Info Web Site**. Disponível em: <<http://www.malvaceae.info/>>. Acesso em 04 de junho de 2018

HAZRA, R; SHARMA, A. **Chromosome Studies In Different Species And Varieties Of *Sida* With Special Reference To Accessory Chromosomes.** *Cytologia*, n.36, v.2, p. 285-297, 1971.

HENNING, W. **Heterochromatin.** *Chromosoma*. v. 108, n.1, p. 1-9, 1999.

HEITZ, E. **Das Heterochromatin Der Moose.** I. *Jahrb Wiss Bot* v.69, p.762-818, 1928.

ISLAM, M.E; HAQUE, M.E; MOSADDIK, M.A. Cytotoxicity And Antibacterial Activity Of *Sida Rhombifolia* (Malvaceae) Grown In Bangladesh. **Phytother. Res.** 17, 973–975. 2003

KARAM, D; OLIVEIRA, M.F; SILVA, A.F. **Controle De Plantas Daninhas.** Sistema Embrapa de produção. 2012.

KREJCIKOVÁ, J. et al. **High Ploidy Diversity And Distinct Patterns Of Cytotype Distribution In A Wide spread Species Of *Oxalis* In The Greater Cape Floristic Region.** *Annals of Botany* v.111, p. 641 - 649, 2013.

KRAPOVICKAS, A. **Las Especies De *Sida* Secc. *Malacroideae* (Malvaceae) Del ConoSur De Sudamérica.** *Bonplandia* v.16, n. 3-4, p. 209-253, 2007.

LIU, C., CHEN, F-M. **Oligonucleotide Studies Of Sequence-Specific Binding Of Chromomycin A3 To Dna.** *Biochemistry*, v.33, n.6, p.1419-1424. 1994

MEDEIROS NETO, E. Intrachromosomal karyotype asymmetry in Orchidaceae. *Genetics and Molecular Biology*, v.40, n.3, p.610-619, 2017.

MURAVENKO, O. V. et al. **Comparison Of Genomes Of Eight Species Of Sections *Linum* And *Adenolinum* From The Genus *Linum* Based On Chromosome Banding, Molecular Markers And RAPD Analysis.** *Genetica*, v. 135, n.2, p. 245-255, 2009.

NOOR, S.S. et al. **Differential Fluorescent Chromosome Banding Of Four *Sida* Spp. (Malvaceae).** *Cytologia* v.68, n.1, p. 25–30, 2003.

PARK, Y.; KURODA, M.I. **Epigenetic Aspects Of X-Chromosome Dosage Compensation.** *Science*, vol. 293, p. 1083-1085. 2001

PÉCHON, T. Le; GIDORG, Luc D. B. **On The Relevance Of Molecular Tools For Taxonomic Revision In Malvales, Malvaceae S.L., And Dombeyoideae.** Pascale Besse (ed.), *Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols.* Methods in Molecular Biology, Springer Science Business Media, New York 1115: 27. 2014.

STEVENS, P.F. **Angiosperms Phylogeny Website** 7. University of Missouri. Missouri Botanical Garden. St. Louis. EUA. 2008

PORDEUS, S.M. **Estudo Taxonômico E Síndrome De Dispersão De Malvoideae Burnett (Malvaceae) No Agreste Paraibano, Nordeste Do Brasil.** 2016

PEREIRA, C. K. S. **Estudo Da Ação Psicofarmacológica De *Herissantia Crispa* (L.) Brizicky (Malvaceae)**. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 126p. 2009.

SAMUEL, R. et al. **Phylogenetic Analyses Of Aurantioideae (Rutaceae) Based On Non Coding Plastid Dna Sequences And Phytochemical Features**. Plant Biology, v.3, n.1, p.7787, 2001.

SILVA, J.B.; PASSINI, T.; VIANA, A.C. **Controle De Plantas Daninhas Na Cultura Do Sorgo. In: Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária - Embrapa**. Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG). Recomendações para o cultivo do sorgo. Sete Lagoas. p.41- 44 (EMBRAPA – CNPMS. Circular Técnica, 1).1998

SILVA, D.A. et al. **Constituintes Químicos E Atividade Antioxidante De *Sida Galheirensis* Ulbr. (Malvaceae)**.Quím. Nova, v. 29, n. 6, 2006.

SIEDO, S.J. **A Taxonomic Treatment Of *Sida* Sect. *Ellipticifoliae* (Malvaceae)**. The Plant Resources Center, University of Texas at Austin. Lundellia, v.2, n.1, p.100-127. 1999.

SKOVSTED, A. **Chromosome number the Malvaceae I**. *Journal of Genetics*. n. 31. p. 263293, 1935.

SOUZA, L. G. R. et al. **Cytogenetic And Molecular Evidence Suggest Multiple Origins And Geographical Parthenogenesis In *Nothoscordum gracile* (Alliaceae)**. Annals of Botany, v.109, n.5, p.987-999,2012.

UGBOROGHO, R.E. **Cytogenetic Studies On The *Sida Rhombifolia* Complex In Nigeria**. CYTOLOGIA, 47(1), 11-20. 1982

VASCONCELOS, M.C.C; SILVA, A.F; LIMA, R.S. **Interferência Sobre Plantas Daninhas Sobre Plantas Cultivadas. Agropecuária científica do semiárido**. 2012

VENKATESH, K.H; DINESH, D.; MUNIRAJAPPA, N.V. **Chromosome Numbers And Karyotype Studies Of Few Members Of Malvales**. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics. v.3, n.2, 2015

VERDCOURT, B. **The Variation Of *Sida Rhombifolia* L. (Malvaceae) In East Africa**. Kew Bulletin v.59, n. 2, p. 233-239, 2004.

WANG, Q.L. et al. ***Sidastrum* Baker f. (Malvaceae), A Newly Recorded Genus from China**. Tropical and subtropical botany, v. 25, n.2, p.179-181, 2017.